FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Carcinoembryonic Antigen
Clone II-7
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS622

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen (CEA), Clone II-7, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with (Dako Autostainer/ Autostainer Plus instruments. This antibody labels the CEA-positive glycocalyx surface of gastrointestinal cells and is useful for the identification of colon carcinomas (1). Antibodies to CEA may also be useful for the identification of medullary carcinoma of the thyroid (2). In addition, the characteristic CEA expression of secretory meningiomas, is labeled by the antibody (3). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and explanation

CEA is an oncofetal heterogeneous family of related glycoproteins (4) designated CD66 (5). The family consists of more than 17 expressible closely related genes, belonging to the immunoglobulin superfamily (5). CEA is normally present during fetal life, but occurs at low concentrations in adults, and circulates in high concentrations in patients with certain malignancies, particularly epithelial tumors (3). The protein part of CEA consists of a single polypeptide chain, containing a 107 amino acid NH-terminal domain and three highly homologous domains of 178 amino acids. CEA is secreted into the glycocalyx surface of gastrointestinal cells and hence it is especially associated with carcinomas from the gastrointestinal tract (6) – e.g. adenocarcinomas of colon, stomach and pancreas. In addition, CEA is found in adenocarcinomas of lung and breast (7).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: II-7 (3). Isotype: IgG1, kappa.

Immunogen

Purified human CEA from liver metastasis of lung adenocarcinoma (4).

Specificity

In ELISA, the antibody reacts with CEA preparations from both colo-rectal carcinomas, lung andenocarcinomas and the colon carcinoma cell line LS 174T, whereas the antibody does not cross-react with isolated CEA-related antigens, e.g. NCA-55, NCA-95, NCA-160 and BGP I (4). Based on ELISA, using reduced, carboxymethylated and Smith degraded CEA, the antibody is predicted to react with a conformation dependent epitope, in which the carbohydrate structures of the CEA glycoprotein are involved (4).

Using solid-phase competitive immunoassays, monoclonal antibodies to CEA have been classified into five essentially non-interacting epitope groups called GOLD 1-5. Monoclonal antibodies with a high degree of CEA specificity generally belong to epitope groups GOLD 1 or 3. Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen (CEA), Clone II-7, belongs to epitope group GOLD 1 (8).

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 ℃. Do not use after expiration date sta mped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation including materials required but not supplied

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004).

Paraffin-embedded sections: Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004). Note: After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

Deparaffinized sections: Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using aqueous or permanent mounting medium.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended.

Staining procedure including materials required but not supplied

The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols:

Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume)

Autoprogram: CEA (without counterstaining) or CEAH (with counterstaining)

The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none". This ascertains comparable wash times.

All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument.

If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in "Performance characteristics".

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include colon and tonsil and the cells/structures should display reaction patterns as described for these tissues in "Performance characteristics" in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display cytoplasmic and membranous staining. In tissue sections of normal colon, CEA is mainly localized at the apical border of the epithelial cells. In tissue sections of colon carcinoma, CEA is mainly localized at the apical border of glandular structures, whereas cytoplasmic labeling predominates in more solid parts of the tumor.

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody labels normal colon. Epithelial cells of the colon mucosa show a moderate to strong staining reaction at the luminal surface and the glycocalyx. In tonsil, the squamous epithelial cells show focally a weak to moderate cytoplasmic staining reaction.

Abnormal tissues: The antibody labeled 6/6 colon carcinomas, 2/2 gall bladder carcinomas and 2/3 carcinomas of the Vater-ampulla. In addition, the antibody labeled 31/31 secretory meningiomas (2). Testing of the antibody on medullary carcinoma of the thyroid showed positive reaction.

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro.*

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen (CEA), clone II-7, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), est destiné à une utilisation en immunohistochimie avec les instruments (Dako Autostainer/Autostainer Plus). Cet anticorps marque la surface du glycocalyx des cellules gastro-intestinales, positive à l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) et facilite l'identification des carcinomes du côlon (1). De plus, l'expression caractéristique de l'ACE des méningiomes sécrétoires est marquée par l'anticorps (2). Les anticorps dirigés contre l'ACE peuvent également s'avérer utiles dans l'identification du carcinome médullaire de la thyroïde (3). L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication

L'ACE est une famille hétérogène oncofœtale de glycoprotéines (4) apparentées désignées sous le nom de CD66 (5). Cette famille comprend plus de 17 gènes d'expression étroitement apparentés, appartenant à la superfamille des immunoglobulines (5). L'ACE est normalement présent pendant la vie fœtale. Il est retrouvé à de faibles concentrations chez l'adulte, et circule à de fortes concentrations chez les patients atteints de certains cancers, en particulier les tumeurs épithéliales (3). La partie protéique de l'ACE consiste en une seule chaîne polypeptidique, contenant un domaine N-terminal de 107 acides aminés et trois domaines hautement homologues de 178 acides aminés. L'ACE est sécrété à la surface du glycocalyx des cellules gastro-intestinales, d'où son association particulière avec les carcinomes du tractus gastro-intestinal (6), par exemple, les adénocarcinomes du côlon, de l'estomac et du pancréas. De plus, l'ACE est retrouvé dans les adénocarcinomes du poumon et du sein (7).

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : II-7 (3). Isotype : IgG_1, kappa.

Immunogène

ACE humain purifié à partir de métastases hépatiques provenant d'un adénocarcinome du poumon (4).

Spécificité

Lors d'un test ELISA, l'anticorps réagit aux préparations d'ACE provenant de carcinomes colorectaux, d'adénocarcinomes du poumon et aussi de la lignée cellulaire LS 174T issue d'un carcinome du côlon, alors que ce même anticorps ne réagit pas aux antigènes isolés apparentés à l'ACE, par exemple le NCA-55, le NCA-95, le NCA-160 et le BGP I (4). Selon le test ELISA, utilisant un ACE réduit, carboxyméthylé et ayant été soumis à une méthode de dégradation de Smith, l'anticorps devrait réagir à un épitope dépendant de la conformation, dans lequel les structures hydrates de carbone de la glycoprotéine ACE sont impliquées (4).

Lors de l'utilisation de tests immunologiques par compétition en phase solide, les anticorps monoclonaux anti-ACE ont été classés en cinq groupes d'épitopes essentiellement non interactifs nommés GOLD 1 à 5. Les anticorps monoclonaux ayant un haut degré de spécificité à l'ACE appartiennent généralement aux groupes d'épitopes GOLD 1 ou 3. L'anticorps monoclonal de souris anti-antigène carcino-embryonnaire (ACE) humain, clone II-7 appartient au groupe d'épitopes GOLD 1 (8).

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 ℃. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

Un prétraitement avec démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) est nécessaire avec le Dako PT Link (Réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004).

Coupes incluses en paraffine : le prétraitement des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure de préparation d'échantillon 3-en-un pour le Dako PT Link. Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004). Remarque : après coloration, les coupes doivent être déshydratées, lavées et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

Coupes déparaffinées : le prétraitement des coupes tissulaires déparaffinées, fixées au formol et incluses en paraffine, est recommandé à l'aide du Dako PT Link, en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames FLEX IHC Microscope Slides (Réf. K8020).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8010). Les étapes de coloration et d'incubation sont préprogrammées dans le logiciel des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :

Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume de distribution de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume de distribution de 300 µL)
Autoprogram : CEA (sans contre-coloration) ou CEAH (avec contre-coloration).

L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration avec ≤10 lames. Pour les cycles de coloration de >10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela confirme des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'instrument Dako Autostainer utilisé, contacter le service technique de Dako.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation désire une intensité de coloration différente, un spécialiste d'application/spécialiste du service technique de Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la re-programmation du protocole. Vérifier que l'exécution du protocole modifié est toujours valide en vérifiant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit dans les « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide d'hématoxyline EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être réalisés en même temps et avec le même protocole que les échantillons du patient. Le contrôle de tissu positif doit comprendre l'amygdale et le côlon et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que décrits pour ces tissus dans les « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. IS750).

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique et membranaire. Dans les coupes de tissus de côlon sain, l'ACE est principalement localisé au niveau de la bordure apicale des cellules épithéliales. Dans les coupes de tissus de carcinome du côlon, l'ACE est principalement localisé au niveau de la bordure apicale des structures glandulaires, alors qu'un marquage cytoplasmique est prédominant dans certaines parties plus solides de la tumeur.

Caractéristiques de performance

Tissus sains : L'anticorps marque le côlon sain. Les cellules épithéliales de la muqueuse du côlon indiquent une coloration modérée à forte sur la surface luminale et la surface du glycocalyx. Dans l'amygdale, les cellules épithéliales squameuses indiquent de manière focalisée une coloration cytoplasmique faible à modérée.

Tissus tumoraux : L'anticorps a marqué 6 cas sur 6 de carcinomes du côlon, 2 cas sur 2 de carcinomes de la vésicule biliaire et 2 cas sur 3 de carcinomes de l'ampoule de Vater. De plus, l'anticorps a marqué 31 cas sur 31 de méningiomes sécrétoires (2). Le test de l'anticorps sur le carcinome médullaire de la thyroïde a présenté une réaction positive.

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen (CEA), Clone II-7, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie in Verbindung mit Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper markiert die CEA-positive Glykokalixoberfläche von gastrointestinalen Zellen und dient zur Identifizierung von Dickdarmkarzinomen (1). Außerdem wird die charakteristische CEA-Expression von sekretorischen Meningiomen vom Antikörper markiert (2). Antikörper auf CEA dienen ebenfalls der Erkennung von medullären Schilddrüsenkarzinomen (3). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit ordnungsgemäßen Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erklärung

Beim karzinoembryogenen Antigen (CEA) handelt es sich um eine onkofötale, heterogene Familie verwandter Glykoproteine (4) mit der Bezeichnung CD66 (5). Die Familie besteht aus mehr als 17 exprimierbaren, eng verwandten Genen, die der übergeordneten Famile der Immunglobuline angehören (5). CEA tritt normalerweise während der Fötalphase auf, taucht in geringen Konzentrationen jedoch auch bei Erwachsenen und bei Patienten mit bestimmten Malignitäten, insbesondere mit epithelialen Tumoren, auf (3). Der Proteinanteil von CEA besteht aus einer einzelnen Polypeptidkette, die einen NH-terminalen Bereich mit 107 Aminosäuren und drei stark homologe Bereiche mit 178 Aminosäuren enthält. CEA wird in die Glykokalixoberfläche von gastrointestinalen Zellen sezerniert und wird daher insbesondere mit Karzinomen im Magen-Darm-Trakt (6) – wie z.B. Adenokarzinomen im Darm, Magen und Pankreas – assoziiert. Außerdem tritt CEA in Adenokarzinomen der Lunge und Brust auf (7).

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako oder den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Mitgelieferte Reagenzien

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält.

Klon: II-7 (3). Isotyp: IgG1, Kappa.

Immunogen

Gereinigtes menschliches CEA aus der Lebermetastase eines Lungenadenokarzinoms (4).

Spezifität

Beim ELISA-Test reagiert der Antikörper mit CEA-Präparaten von kolorektalen Karzinomen, Lungenadenokarzinomen und der Dickdarmkarzinom-Zelllinie LS 174T, während der Antikörper keine Kreuzreaktion mit isolierten CEA-verwandten Antigenen, wie z.B. NCA-55, NCA-95, NCA-160 und BGP I, aufweist (4). Auf der Basis des ELISA-Tests lässt sich vorhersagen, dass der Antikörper bei Verwendung von reduziertem, karboxymethyliertem Smith-abgebautem CEA mit einem konformationsabhängigen Epitop reagiert, bei dem die Kohlenhydratstrukturen des CEA-Glykoproteins beteiligt sind (4).

Mithilfe von kompetitiven Festphasen-Immunassays wurden monoklonale Antikörper gegen CEA in fünf prinzipiell nicht miteinander interagierende Epitopgruppen mit der Bezeichnung GOLD 1-5 eingeteilt. Monoklonale Antikörper mit einer höhergradigen CEA-Spezifität gehören im Allgemeinen der Epitopgruppe GOLD 1 oder 3 an. Monoclonal Mouse Anti-Human Carcinoembryonic Antigen (CEA), Clone II-7 gehört zur Epitopgruppe GOLD 1 (8).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuften Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 ℃ aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschch en aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Die Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) mit Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) ist erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) erzielt werden.

Paraffineingebettete Schnitte: Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Probenvorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) durchführen. Hinweis: Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit permanentem Einbettmedium auf den Objektträger aufgebracht werden.

Entparaffinierte Schnitte: Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Die Objektträger nach dem Färben mit einem wässrigen oder permanenten Einbettmedium bedecken.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX+, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software der Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräte mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrixprotokoll: FLEXRTU2 (200 µL Abgabevolumen) oder FLEXRTU3 (300 µL Abgabevolumen)
Autoprogram: CEA (ohne Gegenfärbung) oder CEAH (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der „Zusatz"-Schritt auf „Pufferspülgang" eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den „Zusatz"-Schritt auf „Keine" einstellen. Dieses gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Färbeprotokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den Technischen Kundendienst von Dako verständigen.

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Färbemuster identisch ist.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Das positive Kontrollgewebe muss Zellen aus Dickdarm- und Mandelgewebe enthalten, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativ-Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen ein zytoplasmatisches und membranöses Färbemuster auf. In Gewebeschnitten eines gesunden Dickdarms wird CEA vorwiegend an der apikalen Grenze der Epithelzellen gefunden. In Gewebeschnitten von Darmkarzinomen wird CEA vorwiegend am apikalen Rand von Drüsenstrukturen gefunden, während die zytoplasmische Färbung in festeren Bestandteilen des Tumors überwiegt.

Leistungsmerkmale

Gesundes Gewebe: Der Antikörper markiert gesundes Dickdarmgewebe. Epithelzellen der Darmschleimhaut weisen eine mäßige bis starke Färbereaktion an der Luminal- und Glykokalixoberfläche auf. In Mandelgewebe weisen die Plattenepithelzellen fokal eine schwache bis mäßige zytoplasmatische Färbereaktion auf.

Pathologisches Gewebe: Der Antikörper markierte 6 von 6 Dickdarmkarzinomen, 2 von 2 Gallenblasenkarzinomen und 2 von 3 Karzinomen der Vater-Ampulle. Außerdem markierte der Antikörper 31 von 31 sekretorischen Meningeomen (2). Antikörpertests auf medulläre Schilddrüsenkarzinome ergaben positive Reaktionen.

References/ Références/ Literatur

1. Zoubir F, Zeromski J, Sikora J, Szmeja J, Hedin A, Hammarström S. Tumor specificity of monoclonal antibodies to carcinoembryonic antigen. Tumor Biol 1990;11:5-19.
2. Probst-Cousin S, Villagran-Lillo R, Lahl R, Bergmann M, Schmid KW, Gullotta F. Secretory meningioma. Clinical, histologic, and immunohistochemical findings in 31 cases. Cancer 1997; 79:2003-15.
3. Uribe M, Fenoglio-Preisler CM, Grimes M, Feind C. Medullary carcinoma of the thyroid gland. Am J Surg Pathol 1985;9:577-94.
4. Hedin A, Zoubir F, Lundgren T, Hammarström S. Epitope specificity and cross-reactivity pattern of a large series of monoclonal antibodies to carcinoembryonic antigen. Mol Immunol 1986; 23:1053-61.
5. Skubitz KM, Micklem K, van der Schoot E. M14. CD66 and CD67 cluster workshop report. In: Schlossman SF et al., eds. Leucocyte Typing V. White Cell Differentiation Antigens. Oxford-New York-Tokyo: Oxford University Press, 1995:889-99.
6. Larsson Å, Ghosh R, Hammarström S. Relative positions of some epitopes on carcinoembryonic antigen. Cancer Immunol Immunother 1989; 30:92-6.
7. Leong AS-Y, Cooper K, Leong FJW-M. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. 1st ed. London: Oxford University Press; 1999. p. 37-8.
8. Hammerstrom S, Shively JE, Paxton RJ, Beatty BG, Larsson Å, Ghosh R, et al. Antigenic sites in carcinoembryonic antigen. Cancer Res 1989;49:4852-8.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF — Catalogue number / Référence catalogue / Bestellnummer	2 °C – 8 °C — Temperature limitation / Limites de température / Zulässiger Temperaturbereich	Use by / Utiliser avant / Verwendbar bis
IVD — In vitro diagnostic medical device / Dispositif médical de diagnostic in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	Σ — Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests	Manufacturer / Fabricant / Hersteller
Consult instructions for use / Voir les instructions d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten	LOT — Batch code / Numéro de lot / Chargenbezeichnung	

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17